

Neonatale Thymektomie
als Vorbehandlung zur heterologen
Tumorüberpflanzung beim Goldhamster

von
Hans-Jörg Dehlinger
aus
Stuttgart

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. L. Demling

Neonatale Thymektomie als Vorbehandlung zur heterologen Tumorüberpflanzung beim Goldhamster

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Hans-Jörg Dehlinger

aus

Stuttgart

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. H. Valentin
Referent: Prof. Dr. S. Witte
Korreferent: Prof. Dr. L. Demling
Tag der mündl. Prüfung: 18. 6. 1970

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Einleitung

1. Teil

Neonatale Thymektomie beim Goldhamster

A Der Goldhamster: *Mesocricetus auratus*

Einleitung

1. Züchtung
2. Haltung
3. Futter

B Neonatale Thymektomie

Einleitung

1. Thymus und Immunität
2. Wirkung der Thymektomie auf das Tier
3. Methodik der neonatalen Thymektomie

2. Teil

Heterologe Tumorüberpflanzung von Mensch auf Tier (Hamster)

Einleitung

1. Zur Frage, heterologe Tumore zu überpflanzen
2. Wahl der Hamsterbackentasche als Ort der Überpflanzung
3. Methodik der Tumorüberpflanzung

3. Teil

Ergebnisse

A Thymektomie

B Überpflanzung

1. Tumor-Material
2. Histologie
3. GW 176

4. Teil

Diskussion

Literatur

Einleitung

Seit Jahrzehnten sind Krebsforschung und Industrie bemüht, ein Mittel zu finden, das selektiv Krebszellen zerstört, ohne gesunde Zellen zu schädigen. In dem Bericht über den Internationalen Krebskongress in Tokio schreibt GERIGKE (Dtsch. Ärzteblatt 6. 5. 1967), daß "bis heute kein Ansatzpunkt für den Chemiker gegeben ist, von dem aus gezielte und spezifisch gegen Tumorzellen gerichtete Verbindungen synthetisiert werden können. Außerdem ergab sich, daß unsere Kenntnisse über die biochemischen Vorgänge in den verschiedenen Tumoren und beim jeweiligen Tumorträger noch sehr unvollkommen sind."

Gewiß wurden mit einigen chemischen Mitteln Erfolge erzielt, doch kann von einer sicheren Heilung bisher nicht gesprochen werden. (19) Geht man davon aus, daß eine Kombination von Operation, Bestrahlung und Chemotherapie sowie immunbiologischer Vor- und Nachbehandlung zur Zeit das Optimum der Krebstherapie darstellt, bedenkt man ferner, daß sowohl operativ wie auch radiologisch eine Grenze der Leistungs- und Ausbaufähigkeit erreicht ist, so bleibt für die weitere Forschung die Chemotherapie und die immunbiologische Therapie von Bedeutung.

Bei der Chemotherapie (22) scheinen vor allem 2 Gesichtspunkte im Vordergrund zu stehen:

1. Die Entwicklung neuer Substanzen und
2. deren Testung an menschlichem Tumormaterial.

Es ist das Ziel dieser Arbeit, einen der möglichen Wege zu untersuchen, menschliches Krebsmaterial für derartige Testzwecke zu gewinnen. Die Untersuchungen nahmen ihren Ausgangspunkt in der an Einzelfällen gelungenen dauerhaften Überpflanzung von Humantumoren auf den Goldhamster (61, 40, 13, 65). Es sollte geprüft werden, ob die neonatale Thymektomie der Empfängertiere die Erfolge der Primärtransplantation verbessert.

1. Teil

Neonatale Thymektomie beim Goldhamster

A Der syrische Goldhamster *Mesocricetus auratus*

E i n l e i t u n g

Der Goldhamster besitzt ganz besondere Eigenschaften in Bezug auf die Ontogenese: Er ist das am weitesten entwickelte Säugetier, das bekannt ist. Seine Schwangerschaftszeit beträgt nur 14 - 16 Tage; in dieser Zeit werden die Tiere voll entwickelt geboren. Außerdem ist der Hamster das Säugetier mit der kürzesten sexuellen Reifezeit. (28). BRUCE und Hindle (1934) (12) beobachteten Weibchen, die schon nach 52 Lebenstagen trächtig wurden. Vereinzelt wurden auch (SELLE 1945) (57) Weibchen beobachtet, die nach 28 Lebenstagen trächtig wurden.

Ich habe für meine Versuche zum Teil die Goldhamster selbst gezüchtet, dabei aber immer Tiere verwendet, die über 3 Monate alt und damit sicher schon befruchtungsfähig waren.

1. Züchtung

Die Züchtung des Goldhamsters wird in der Literatur, in der über Versuche mit diesen Tieren berichtet wird, nicht gesondert dargestellt. Wir bezogen unsere Versuchstiere teils von einer Tierzuchtfirma (Versuchstierzucht Theresia Röttger, Oeventrop, Westfalen), die sich auf Aufzucht von Versuchstieren für Laboratorien spezialisiert und sich dabei auf Hamster, Mäuse, Ratten und Meerschweinchen beschränkt hatte; teils be-

kamen wir die Hamster auch von Privatpersonen (Otto Stimpfig, Crailsheim/Wtbg., Reinthalerstraße 19) geliefert, die nur diese Tiere als Nebenverdienst und meist nach Bestellung, manchmal ausschließlich für uns, züchteten.

Um einen einheitlichen Versuchstierstamm zu erhalten, und um jederzeit genügend Tiere zur Verfügung zu haben, begann ich, selbst mit der Aufzucht der Tiere zu experimentieren. Dabei mußte ich mich anfangs auf die Erkenntnisse von Granados (28) stützen.

So besteht ein Unterschied bei der Züchtung von Goldhamstern, je nachdem, ob die Tiere in freier Natur leben oder im Labor gehalten werden. Ebenso sollen die 4 Jahreszeiten einen Einfluß auf die Vermehrung der Tiere haben, was auf den Unterschied von Licht, Temperatur und Luftfeuchtigkeit zurückgeführt wird. Dabei wurde beobachtet, daß männliche Tiere schneller im Frühjahr, Sommer und Winter, weibliche Tiere schneller im Herbst heranwachsen. Eine Temperatur von 20 - 22 Grad C sei bei der Aufzucht und Haltung optimal.

Diese Beobachtungen konnten von mir im einzelnen nicht nachgeprüft werden, da sich meine Versuche zwar über mehr als 2 Jahre erstreckten, dieser Zeitraum jedoch für eine endgültige Aussage zu kurz ist.

Jedoch kann ich bestätigen, daß die o. ä. Temperatur auch bei mir optimal war. Bei den Lichtverhältnissen wählte ich einen Mittelweg, indem die Räume mit den Versuchstieren 16 Stunden hell beleuchtet und 8 Stunden innerhalb von 24 h dunkel waren. Die Luftfeuchtigkeit konnte allerdings nicht berücksichtigt werden.

Wenn andere Züchter diese Ergebnisse nicht bestätigen können, so ist dies sicherlich auf eine geographische Lage des entsprechenden Labors zurückzuführen, in der andere klimatische Verhältnisse und damit die jahreszeitlichen Varianten zu anderen Ergebnissen führen.

Bei der praktischen Durchführung der Züchtung stellte sich bei mir nach kurzer Zeit folgendes Vorgehen als am vorteilhaftesten heraus: Es wurden jeweils 2 männliche und 2 weibliche oder 2 männliche und 3 weibliche Tiere (je nach der Anzahl der zur Verfügung stehenden Tiere) in einem genügend großen Käfig zusammengesetzt. Die Tiere blieben dann für 3 Tage zusammen. Danach wurden die weiblichen Tiere, und zwar jeweils eines in einen einzelnen Käfig, von den männlichen getrennt. Die nicht trächtig gewordenen weiblichen Tiere wurden nach 14 Tagen wiederum mit männlichen Tieren zusammengebracht.

Nach dem Werfen blieb das Muttertier noch ca. 3 Wochen mit dem Wurf zusammen. Dieser Zeitraum entspricht der Zeit bis zur Entwöhnung der jungen Tiere. Danach wurden jeweils 2 Muttertiere wieder in einen Käfig gebracht. Nach einer Pause von 2 Wochen (9 Tage entsprechen beim Hamster 2 normalen Menstruationszyklen) wurden die Tiere aufs neue gepaart.

2. Haltung

Wichtigste Voraussetzung beim Arbeiten mit Hamster als Versuchstier ist eine größtmögliche Beständigkeit (28). Dies betrifft sowohl den Tagesrhythmus, die Lufttemperatur, die Räumlichkeiten als auch das Futter und die Käfige. Für den Umgang mit den Tieren scheint mir das Wichtigste zu sein, über die Tiere Bescheid zu wissen und diese wenn möglich auch selbst zu füttern. Da ich

die Tiere nicht nur teilweise selbst züchtete, sondern die Tiere ständig über die gesamte Versuchsdauer selbst fütterte und den Tierstall auch selbst in Ordnung hielt, gewöhnten sich die Tiere sehr schnell an diese für sie immer gleichbleibende Umgebung.

Fülle von Kannibalismus, wie er in vielen Fällen in der Literatur berichtet wird (28, 55, 56), konnte ich durch diese Gleichmäßigkeit, wie auch durch ein Überangebot von frischem Futter und durch eine größtmögliche Ruhe in den Versuchsräumen stark zurückdrängen. Überhaupt ergab sich, daß die Tiere umso ruhiger sind, je weniger Lärm sie ausgesetzt werden.

Die Tiere wurden in Klarsichtkäfigen gehalten, die mit einem Gitter abgedeckt waren. Diese Käfige wurden reichlich mit Sägespänen ausgelegt, damit sich jedes Tier ein kleines Nest bauen konnte. Die Käfige wurden jede Woche gewechselt und sorgfältig gereinigt.

Tiere, die gerade geworfen hatten, wurden bis zur Entwöhnung, also 3 Wochen, im selben Käfig gelassen. Dabei wurden auch nicht die Sägespäne erneuert. Ich konnte nämlich feststellen, daß schon diese ansich geringfügige Veränderung der Lebensverhältnisse das Muttertier zum Kannibalismus oder auch dazu trieb, die Jungtiere zu werfen. Ebenso mußte peinlich darauf geachtet werden, die jungen Tiere nicht mit der Hand zu berühren. Das Berühren eines Tieres, vor allem in den ersten Tagen, genügte oft schon, daß das Muttertier ein solches Tier sofort totgebissen hat.

Auf dieses Problem, die neugeborenen Tiere beim Thymektomieren möglichst wenig mit der Hand zu berühren, werde ich später im Kapitel "Methodik der neonatalen Thymektomie" noch ausführlich eingehen.

Da die Hamster sehr reinliche Tiere sind und sich in einem sauberen Käfig weniger aggressiv zeigten, war es für mich auch ein Problem, wie man die Käfige über die 3 Wochen, in denen ein Muttertier im selben Käfig ihre Jungen aufzog, sauber halten konnte. Dieses Problem blieb praktisch ungelöst, doch wurde es wenigstens so umgangen, daß ich die trächtigen Tiere genau beobachtete, bevor sie warfen. Nach kurzer Zeit erlangte ich dafür einen solchen Blick, daß ich das jeweilige Tier praktisch kurz vor dem Wurf noch in einen sauberen Käfig umsetzen konnte.

Die Hamster zeigten sich während der Versuche recht anfällig gegenüber Infekten. Diarrhoen führten häufig zum Tod der Tiere. Gleichbleibendes Futter und das strenge Achten auf Sauberkeit drängten diese Todesursache zurück (31, 55, 58).

Relativ häufig kam es anfangs vor, daß die Tiere miteinander kämpften. Dies führte nicht nur zum Tode eines oder mehrerer Tiere; durch den Lärm der kämpfenden Tiere wurden auch die übrigen unruhig, so daß noch andere Tiere plötzlich sich ineinander verbissen. Als Ursache für diese Kämpfe kamen in Betracht: Neue Tiere, die zu Tieren in den Käfig gebracht wurden, die schon längere Zeit im Versuch standen; dann Tiere, die in zu großer Zahl in einem zu kleinem Käfig waren. Diese Ursachen wurden durch genaue Beschriftung jedes Käfigs mit einem Steckbrief für jedes Tier praktisch beseitigt. (28)

Es gibt allerdings Tiere, die immer kämpfen, oder weibliche Tiere, die immer die Neugeborenen auffressen (23). Diese Hamster mußten dann getötet werden.

3. Futter

Wir verwendeten als fertig gepreßtes Futtermaterial Altromin, das auch an Mäuse und Ratten verfüttert wird. In besonderen Flaschen, die schräg in das Käfiggitter gelegt wurden, bekamen die Tiere Wasser ad libitum. Es wurde darauf geachtet, daß das Wasser nach Möglichkeit jeden dritten Tag erneuert wurde.

Zusätzlich wurden auch gelbe Rüben verfüttert. Im Herbst und Winter erhielten die Tiere teilweise ausschließlich Zuckerrüben, wobei dann auf das Wasser verzichtet wurde. Dies erforderte jedoch einen erheblichen Mehraufwand an Zeit allein zur Versorgung der Tiere, da die Rüben vor dem Füttern erst zurechtgeschnitten werden mußten. Durch die Überreste ergab sich dann eine zusätzliche und schnellere Verschmutzung der Käfige. Außerdem mußten die Rüben mindestens alle 2 Tage neu verteilt werden, da die Stücke schnell austrockneten und dann nicht mehr gefressen wurden.

Grundsätzlich wurde darauf verzichtet, dem Futter oder dem Wasser irgendwelche Medikamente, wie z. B. Antibiotika beizumischen (55).

B Neonatale Thyrektomie

E i n l e i t u n g

Lange Zeit ist der Thymus ein rätselhaftes Organ gewesen. GALEN (24) hielt ihn für eine Art Kissen, das die großen Gefäße gegen das knochige Sternum schützen sollte. Seither sind immer wieder Behauptungen über seine Embryologie, Anatomie, Physiologie und Pathologie aufgestellt und bestritten worden (36).

Die neueren Forschungsergebnisse weisen auf die Bedeutung des Thymus in der Immunitätsökonomie hin. Man konnte nachweisen, daß pathologische Veränderungen des Thymus Veränderungen bei Immunreaktionen bewirken (20).

Beim Menschen fanden sich enge Beziehungen zwischen Thymus und Entwicklung der Abwehrfähigkeit, nachdem eindeutige immunologische Mangelsyndrome auf eine Thymusfehlentwicklung zurückgeführt werden konnten. So besteht bei der lymphopenischen Form der Hypogammaglobulinämie, die durch COTTIER, HITZIG und WILLI eingehend erforscht worden ist, ein Versagen der verzögerten Sensibilitätsreaktionen und der Abstoßung homologer Transplantate sowie ein nahezu vollständiges Fehlen von Lymphocyten und Hassallschen Körperchen; manchmal hat der Thymus eine abnorme, nicht descendierte Lage (16, 34).

1. Thymus und Immunität

Nachdem die Thymusforschung lange Zeit nur zögernd voranschritt - der Thymus galt als lymphatisches Organ mit unbekannter Funktion - ergab sich in den letzten 20 Jahren ein immer stärker werdendes Interesse der Forschung an diesem Organ. Mehrere Arbeitsgruppen waren daran beteiligt.

So wurde noch vor wenigen Jahren die Desoxyribonucleinsäure, als man deren genetische Bedeutung noch nicht kannte, als Thymonucleinsäure bezeichnet, da sie hauptsächlich aus dem Kalbsthymus, den Milken, gewonnen wurde. An die gleiche Quelle erinnert auch "Thymin", d. h. jene Pyridinbase, die nur in der Desoxyribonucleinsäure vorkommt (41).

1951 versuchten COONS und Mitarbeiter (15) mit der Methode der Fluoreszierenden Antikörper, den Weg intravenös injizierter Antigene auch in Thymus zu verfolgen, konnten diese aber nur in unmittelbarer Nähe der Blutgefäße lokalisieren, nicht in Thymusgewebe selbst.

Ejörnböe und Mitarbeiter (11) wiesen nach, daß der Thymus in vivo nicht instande ist, Antikörper zu bilden; die Zahl der Plasmazellen im Thymus erhöhte sich nicht, wenn vom Organismus vermehrt Antikörper produziert werden. THORBECKE und KEUHLING (60) konnten bei Versuchen in vitro ebenfalls keine Antikörperbildung des Thymus erzielen. Dies wurde später wiederholt bestätigt (HARRIS und FARRIS 31, ARNASON und Mitarbeiter 3).

Den entscheidenden Beitrag zur Aufklärung der Funktion des Thymus lieferte zweifellos 1961 J. MILLER. Er führte als erster die Thymektomie an neugeborenen Mäusen durch (43).

Die zentrale Bedeutung des Thymus für die Entwicklung und Überwachung des Immunitätsapparates wurde damit erst seit knapp 9 Jahren voll erkannt mit der Beobachtung, daß die Thymektomie zu eindrucksvollen Ausfallerscheinungen führt.

2. Neonatale Thymektomie - Wirkung auf das Tier -.

Thymusexstirpationen wurden bei verschiedenen Tierarten, meist Nagern, im jüngeren Erwachsenenalter durchgeführt. Dabei ergab sich, daß dem Thymus im Erwachsenenleben in Bezug auf Lymphopoese und immunologische Integrität keine wesentlichen Aufgaben mehr zufallen (43, 30, 32, 39, 44, 45, 55, 59, 54).

Ganz anders verhält es sich aber bei der Thymusexstirpation im frühesten Lebensalter, der neonatalen Thymektomie.

Als Folge der Thymektomie bei neugeborenen Tieren - bisher durchgeführt bei Mäusen (45, 59), Ratten (4), Fühnern (50), Kaninchen (39) und Hamstern (55, 58, 54) - ergaben sich hauptsächlich 2 Punkte:

- a) das sogenannte Wasting Syndrom oder Wasting Disease und
- b) die dauernde Aufhebung der normalen immunologischen Reaktionsfähigkeit (MILLER und DUKOR).

Dabei tritt das Wasting Syndrom je nach Tierspezies und Tierstamm (58, 17, 37, 56), je nach Belastung (53, 47, 38), aber auch je nach Untersucher (55, 58, 5) an einer mehr oder minder großen Zahl von Tieren auf. (48). Meine Beobachtungen am Hamster decken sich in Bezug auf die Symptomatik des Wasting Syndrom mit der Literatur, in Bezug auf die Zahl der davon betroffenen Tiere jedoch nicht immer. Ebenso konnte von mir der von SHERMAN und Mitarb. (58) beschriebene Geschlechtsunterschied, daß nämlich weibliche Hamster nicht von dem Wasting Syndrom befallen sind, nicht beobachtet werden. Andere Autoren (48, 55) berichteten ebenfalls nicht von diesem Geschlechtsunterschied.

Das Wasting Syndrom ist eine heftige, tödlich endende Erkrankung, die gekennzeichnet ist durch Gewichtsverlust, Ver-

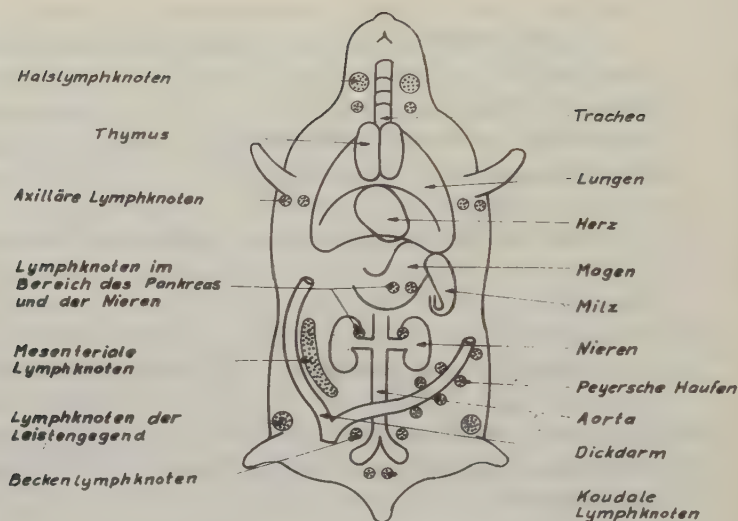
fall der Tiere, Apathie, Rückenkyphose, periorbitale und faciale Ödeme, rauhes und struppiges Fell, durch Haarausfall im hinteren Cervikalbereich, unsicheren Gang, Diarrhoe oder Obstipation, Anämie, leichte Eritrocytose, Thrombocytopenie und eine absolute Verminderung der zirkulierenden Lymphocyten.

Die postmortale Untersuchung der befallenen Tiere erbrachte keinen Beweis für eine Sepsis. Kulturen aus dem Wundbezirk nach Thymektomie und aus Herzblut waren negativ (55). Es fiel ein vollständiges Fehlen von Körperfett auf. Restliches Thymusgewebe wurde dabei in keinem Fall gefunden. Weiter zeigte sich eine starke Verminderung der Milzgröße sowie das fast vollständige Fehlen der Malpighischen Körperchen der Milz. Peyersche Plaques waren ähnlich vermindert (55).

Diese makroskopischen und histologischen Veränderungen wurden bei teilweise thymektomierten, scheinthymektomierten oder Kontrollhamstern nicht beobachtet (20, 55).

Die 2. und entscheidende Reaktion, die nach der neonatalen Thymektomie auftritt, nämlich die dauernde Aufhebung der normalen immunologischen Reaktionsfähigkeit, kann dagegen an allen Tieren nachgewiesen werden (20, 43, 30, 39).

Die Arbeiten von MILLER (43), HUMPHREY und Mitarb. (35), EAST und Mitarb. (21) zeigten das Auftreten verschieden stark verminderter Antikörperproduktion gegenüber den verschiedensten Antigenen wie Rinderserumalbumin, Salmonella typhi, Influenzavirus, Schaferythrocyten, Pneumokokkenpolysaccharid usw. Darüberhinaus zeigte sich, daß Hauttransplantate - auch fremder Spezies, wie Rattenhaut auf Mäuse - zum Einwachsen und Persistieren gebracht werden konnten.



- Schematische Übersicht über die anat. topographische Lage des Thymus und des lymphatischen Apparates beim Goldhamster.

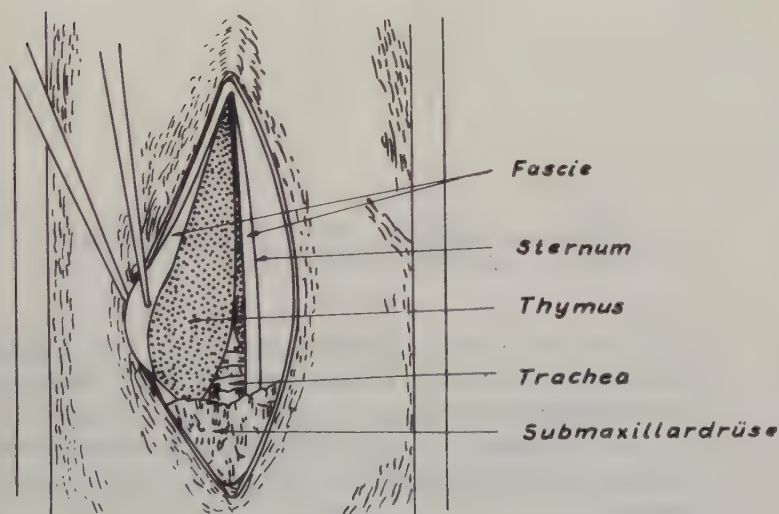
Aus Image Roche, 2, 1967, abgeändert -

Damit wird durch die neonatale Thymektomie erreicht, daß die Tiere gegenüber Tumorstämmen z. B. Poliovirus (DEFENDI und Mitarb. 17), dem Adenovirus (LÖFFLER, Schweiz, 41), aber auch gegenüber Tumorzellen (DEFENDI und Mitarb. 17) und chemischen Carcinogenen (MILLER, GRANT, ROE 49) empfänglicher werden, was durch diese daraus resultierende immunologische Insuffizienz zu erklären ist.

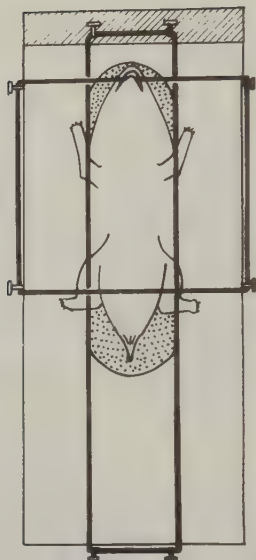
Zusammenfassend ergibt sich somit, daß der neonatalen Thymektomie die dauernde Aufhebung der normalen immunologischen Reaktionsfähigkeit (MILLER und DUKOR 48) folgt.

Das Wasting Syndrom selbst bildet sich im Laufe der ersten Wochen nach der neonatalen Thymektomie vollständig aus und führt dann zum Tode der Tiere (MILLER und DUKOR 43). AZAR und Mitarb. (6) konnten bei Mäusen zeigen, daß durch Antibiotikagaben, z. B. Terramycin (55), diese Erkrankung weitgehend verhindert wird. WILSON und Mitarb. (64) gelang es sogar, bei keimfrei gehaltenen Mäusen die Wasting Disease vollständig zu verhindern. Der schon früher (EAST und Mitarb. (21), DE SOMMER und Mitarb. (18)) u.a. geäußerte Verdacht, daß das Syndrom eine Infektionsfolge sei, ist wohl damit bewiesen. Das Wasting Syndrom hängt also nur indirekt mit der mangelhaften Ausbildung des immunologischen Apparates zusammen.

3. Methodik der Thymektomie



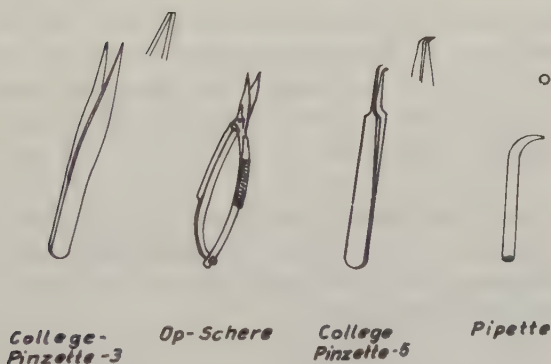
- Schematischer Blick auf das Operationsgebiet bei der Thymektomie - Aus (59), abgeändert -



- Der neugeborene Hamster, auf dem Operationsbrett befestigt. - Aus (59), abgeändert.

Es wurden verschiedene Operationstechniken (55) versucht, so das Narkotisieren der Tiere mit Äther, das Arbeiten mit einem Einokularmikroskop, das Auszupfen der Thymusdrüse mit der Pinzette u. a. Als Methode mit den besten Versuchsergebnissen schälte sich dann nach kurzer Zeit folgende heraus:

Das Tier wird mittels zweier schmaler Gummibänder in Rückenlage derart auf einem speziell angefertigten Operationsbrett befestigt, daß es sich nicht mehr bewegen kann. Der Thorax wird mit Alkohol eingerieben und dann mit einem Schnitt senkrecht durch die Mitte des Sternums bis zur dritten Rippe geöffnet. Mit der College Pinzette spreizt man die Wunde vorsichtig und saugt mit Hilfe einer Glaspipette den Thymus heraus. Mit 2 - 3 Nähten Catgut 6/0 werden die Wunden verschlossen.



- Operationsinstrumente bei der Thymektomie.
Aus (59), abgeändert -

Entscheidend wichtig bei dieser Operationsmethode ist, daß das Tier möglichst nur kurze Zeit auf dem Operationsbrett liegt, um den Schock so zu vermindern, daß das Tier nach dem

Losbinden und dem Zurückgeben zum Muttertier sich lebhaft bewegt. Tiere ohne Bewußtsein wurden fast ausnahmslos sofort vom Muttertier gefressen oder nicht mehr angenommen.

Zu Beginn der Versuche experimentierte ich, wie ich verhindern konnte, daß das Muttertier nach der Thymektomie der Neugeborenen diese auffraß, wie anfangs häufig vorkam. Dabei versuchte ich, das Muttertier einfach so lange zu narkotisieren, bis alle Neugeborenen thymektomiert waren. Es stellte sich aber heraus, daß das Muttertier dann nach dem Aufwachen in eine solche Erregung geriet, daß es fast regelmäßig erst recht zum Kannibalismus kam.

Dann versuchte ich, jeweils nur 1 Tier von der Mutter wegzunehmen zur Thymektomie. Der Nachteil war aber, daß ich das Muttertier bei einer durchschnittlichen Anzahl von Jungen ungefähr 5 - 6 Mal von ihrem Platz wegnehmen mußte, daß das Muttertier am Ende ebenfalls aggressiv wurde und dadurch zum Kannibalismus neigte.

Schließlich stellte sich als Mittel der Wahl heraus, jeweils eine Hälfte des Wurfes herauszunehmen, zu thymektomieren und beim Zurückgeben gleichzeitig die andere Hälfte der Jungen herauszunehmen.

Damit die sehr kleinen neugeborenen Hamster möglichst keinen fremden Geruch annahmen, legte ich sie in einen kleinen Glasbehälter, der mit Sägespänen belegt war und von unten mit einer elektrischen Glühbirne, die mit einem Tuch abgedeckt war, erwärmt wurde.

Um durch unnützes Herumgehen die Tiere nicht zu erschrecken, richtete ich mir für die Thymektomie einen besonderen Arbeitsplatz ein, wo ich die Tiere schon vorher hingestellt hatte und nacher auch stehen lassen konnte.

Um sicher zu stellen, daß tatsächlich der Thymus entfernt wurde, wurden in unregelmäßigen Abständen die herausoperierten Drüsen histologisch untersucht.

Ebenso war es nötig, nach Abschluß der Versuche bzw. nach dem Tode eines Tieres durch Sektion festzustellen, ob ein Rest des Thymus-Drüsengewebes noch vorhanden war.

2. Teil

Heterologe Tumorüberpflanzung von Mensch auf Tier (Kanster).

E i n l e i t u n g

Wie eingangs erwähnt, ist es zur Beurteilung von Zytostatika heute notwendig, menschliches Tumormaterial, und davon ein möglichst umfassendes Spektrum, zur Verfügung zu haben, um deren Eigenschaften und Wachstumsverhalten und deren Reaktion auf die verschiedenen Zytostatika zu testen. Mit der Entwicklung von Methoden zur in-vitro-Kultivierung und in-vivo-Transplantation wurde die Verwendung von menschlichem Krebsmaterial für derartige Untersuchungszwecke möglich.

(25). Es wurden jedoch nur vereinzelte Versuche in dieser Richtung unternommen, vorwiegend an Gewebskulturen (2, 7, 14, 26). Obgleich man an derartigen Gewebskulturen Untersuchungen über die Sensibilität von explantierten Tumorzellen in vitro anstellen kann, lassen sich andere wichtige Gesichtspunkte wie Umsatz, Verteilung und Entgiftung der Substanzen im Organismus damit nicht untersuchen. Deshalb haben sich unsere eigenen Untersuchungen der Transplantation menschlicher Tumore zugewendet (25).

1. Zur Frage, heterologe Tumore zu überpflanzen.

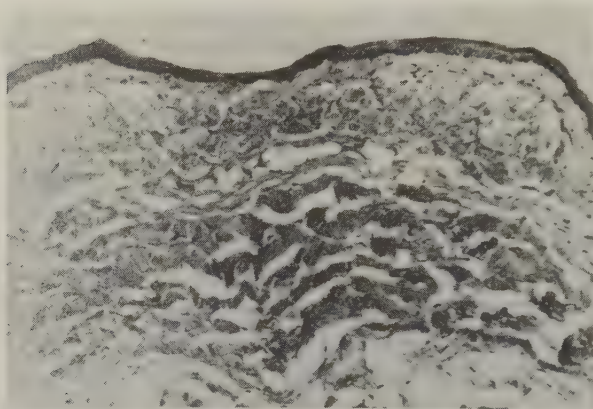
Versuche zur Heterotransplantation menschlicher Tumore lassen sich zurückverfolgen bis zu den Anfängen der experimentellen Tumorforschung (1). Den ersten wichtigen Erfolg auf diesem Gebiet hatte GREENE (29), der menschliche Adenome und Adenokarzinome aus dem Uterus in der vorderen Augenkammer des Kaninchens anzüchtete und für viele Generationen

weiter transplantieren konnte. Von 1951 an nahm TOOLAN frühere Versuche von TUPLEY (51) und MURPHY und STURM (52) mit der Röntgenvorbestrahlung des Wirtstieres wieder auf, unter zusätzlicher Vorbehandlung mit Kortison. Sie erreichte auf diese Weise erfolgreiche langdauernde Transplantationen menschlicher Tumore in vorbehandelten Ratten und Hamstern (62). Zur gleichen Zeit konnte LEMON und Mitarb. (40) sowie CHUTE, SCHIERS und WARREN (13) Fragmente menschlichen Tumorgewebes in die Backentasche syrischer Goldhamster erfolgreich transplantieren. Die Backentasche des Hamsters wurde vorher bereits von FULTON, JACKSON und LUTZ (23) für die Untersuchung der Mikrozirkulation verwendet. Diesen ersten Mitteilungen folgten zahlreiche Untersuchungen über heterologe Transplantationen menschlicher Tumore (66).

Jedoch fanden HERBUT und KRAEMER (33), daß die Zahl der dauerhaft im Tier transplantierbaren Tumore sehr gering war. Bei der Suche nach heterotransplantierbaren menschlichen Tumoren, die schnell proliferieren und innerhalb von 2 Wochen auf etwa das 50 bis 100fache zunehmen, konnte TOOLAN (63) nur etwa 3 % von über 1000 Tumorheterotransplantaten in vorher röntgenbestrahlte und kortisonbehandelte Ratten für diesen Zweck gewinnen.

Es lag nahe, durch andere immunsuppressive Maßnahmen zu versuchen, die Erfolge der Transplantationen zu steigern. Eine von mehreren Möglichkeiten ist die neonatale Thymektomie.

2. Wahl der Hamsterbackentasche als Ort der Überpflanzung.



- Histologisches Bild der Hamsterbackentasche:
Plattenepithel, muskelfaserhaltiges und lockeres
Bindegewebe (Färbung Hämatoxilin-Eosin, Vergrößer-
ung 120 fach) -

Im wesentlichen sind dafür 3 Gründe maßgebend (25):

- a) Es handelt sich um ein Gewebe mit besonders guter Gefäßversorgung.
- b) Die Backentasche kann leicht und oft herausgestülpt werden, und läßt so das Tumorwachstum durch direkte Betrachtung beurteilen.
- c) Dieses Gewebe wird als "immunologisch privilegierter Ort" für Transplantationszwecke angesehen.

Die gute Gefäßversorgung der Backentasche des Goldhamsters wurde zuerst von FULTON, JACKSON und LUTZ (23) für Mikro-

zirkulationsuntersuchungen verwendet, ebenso wie die bekannte Präparation der Froschschwinnhaut benützt wird. Unter Verwendung eines Hamstersarkoms zeigten Lutz und Mitarb. (42) die Zweckmäßigkeit dieses Gewebes, um das Tumorstadium nach einer Transplantation zu beurteilen. Wie bereits erwähnt, haben später LEMON und Mitarb. (40) und CHUTE, SOMERS und WARREN (13) versucht, Fragmente menschlicher Tumore in dieses Gewebe zu übertragen.

Vom immunologischen Standpunkt aus hat die Hamsterbackentasche als bevorzugter Ort für Gewebstransplantationen eine erhöhte Aufmerksamkeit gefunden. BILLINGHAM und SILVERS (8, 9) sowie BILLINGHAM, FERRIGAN und SILVERS (10) halten die Hamsterbackentasche für "immunologisch privilegiert". Danach wären wirtsfremde Gewebstransplantate in dieser Umgebung immunologisch isoliert, so daß sie entweder keine immunologischen Reaktionen auslösen oder immunologische Faktoren sie nicht erreichen. Durch entsprechende Hauttransplantationsversuche konnten sie beweisen, daß die bindegewebigen Elemente des Backentäschengewebes eine Schranke darstellen, die das Übertreten von Antigenen aus dem Transplantat in das übrige Wirtstier verhindert. In ihrer "Schrankenhypothese" nehmen sie also an, daß die Backentasche den afferenten Weg des "immunologischen Reflexes" beeinflußt. In ihren Hauttransplantationsversuchen ergab die Backentasche keine Schranke für efferente immunologische Reaktionen, da derartige Hauttransplantate nicht einheilten, wenn der Wirt zuvor auf anderem Wege gegen den Spender sensibilisiert worden war. Die Ursachen für die Eigenarten des Backentäschengewebes sind aber noch nicht vollständig geklärt worden.

WITTE (65) untersuchte durch vitalmikroskopische Beobachtungen das Verhalten von Fluoreszenzfarbstoffen in der Backentasche des Goldhamsters. Dabei fand sich, daß sowohl nach

lokal, wie nach intravenöser Zufuhr verschiedener Fluorochrome sich ein lymphogener Stofftransport nicht darstellte. Proteingebundene Fluorochrome blieben nach lokaler Injektion im Backentaschengewebe lange Zeit liegen. "Das Fehlen von Lymphgefäßen erklärt die immunologische Besonderheit der Hamsterbackentasche" WITTE (65).

3. Methodik der Tumorüberpflanzung.



- Ausgestülpte Backentasche mit eingeführter Kanüle zur Überpflanzung von Tumorgewebe. -

Die Transplantation des menschlichen Tumormaterials erfolgte unter aseptischen Bedingungen innerhalb einer Stunde nach der operativen Entfernung beim Patienten. Das Tumormaterial wurde von der chirurgischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg zur Verfügung gestellt.

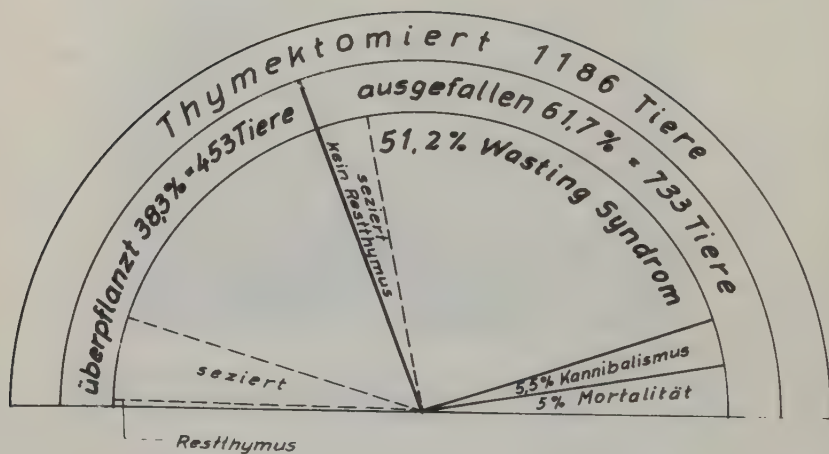
Das resezierte Tumorgewebe wurde hierzu mit Skalpell in steriler physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von

Penizillin (100E/ml) und Streptomycin (0,6mg/ml) zerkleinert. Dann wurde die Gewebsaufschwemmung, die nicht quantitativ standardisiert war, mit Hilfe einer starken Kanüle in beide Hamsterbackentaschen injiziert. Zuvor wurden die Hamsterbackentaschen durch Abwaschen mit einer milden antiseptischen Lösung von Verunreinigungen befreit, mit einem Gazetupfer abgetrocknet und danach die Nadel in das subepidermale Eindegewebe eingeführt. Die Anästhesie der Tiere während der Transplantationsprozedur und der späteren Untersuchungen erfolgte mit Evipan-Natrium (Methylcyclohexenyl-methylbarbitursaures Natrium, Bayer) bei einer Dosis von 100mg/kg Körpergewicht, intraperitoneal appliziert (25).

3. Teil

Ergebnisse

A Thyrektomie



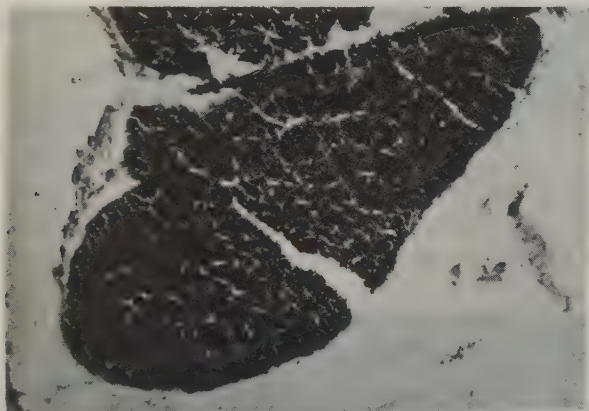
- Übersicht über die thymektomierten Tiere,
Erklärung im Text.-

Es wurden insgesamt 1.186 Tiere thymektomiert. Davon wurden in die Versuchsreihen aufgenommen 38,3 %, d.h., auf 453 Tiere (ohne Kontrolltiere) wurden Tumore überpflanzt.

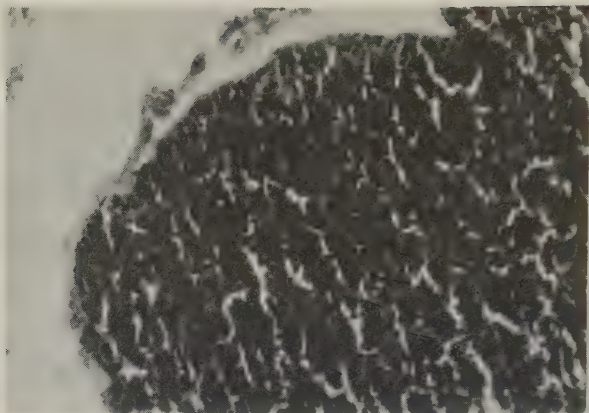
Es wurden pro Tumorüberpflanzung zwischen 6 und 15 Tiere und ebenso viele Kontrolltiere verwendet, ebenso auch bei Weiter-

Überpflanzung auf die nächste Tumorgeneration.

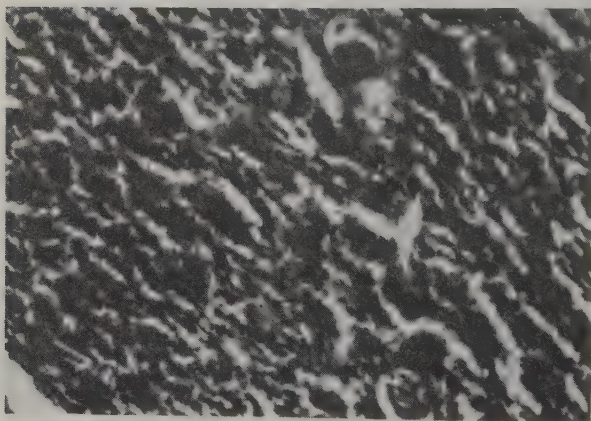
Von den 455 neonatal thymektomierten Tieren, auf die ein Tumor überpflanzt wurde, wurden 109 Tiere, das sind 24 %, seziiert. Dabei fand sich bei 4 Tieren, als 1 %, ein Restthymus, der histologisch untersucht und als Thymusdrüse klar erkennbar war.



- Thymusläppchen eines neugeborenen Kansters.
Übersicht. Vergr. 78 x -



- Rindenbezirk des Thymus eines neugeborenen Hamsters. Vergr. 200 x -



- Markbereich des Thymus eines neugeborenen Hamsters. Verg. 200 x -

Der Ausfall von 733 Tieren = 61,7 % läßt sich wie folgt aufschlüsseln:

60 Tiere = 5 % betrug die Mortalität bei der Operation; dies entspricht auch der in der Literatur angegebenen Höhe (58, 54, 55).

66 Tiere = 5,5 % gingen durch Kannibalismus zugrunde (58, 54, 55).

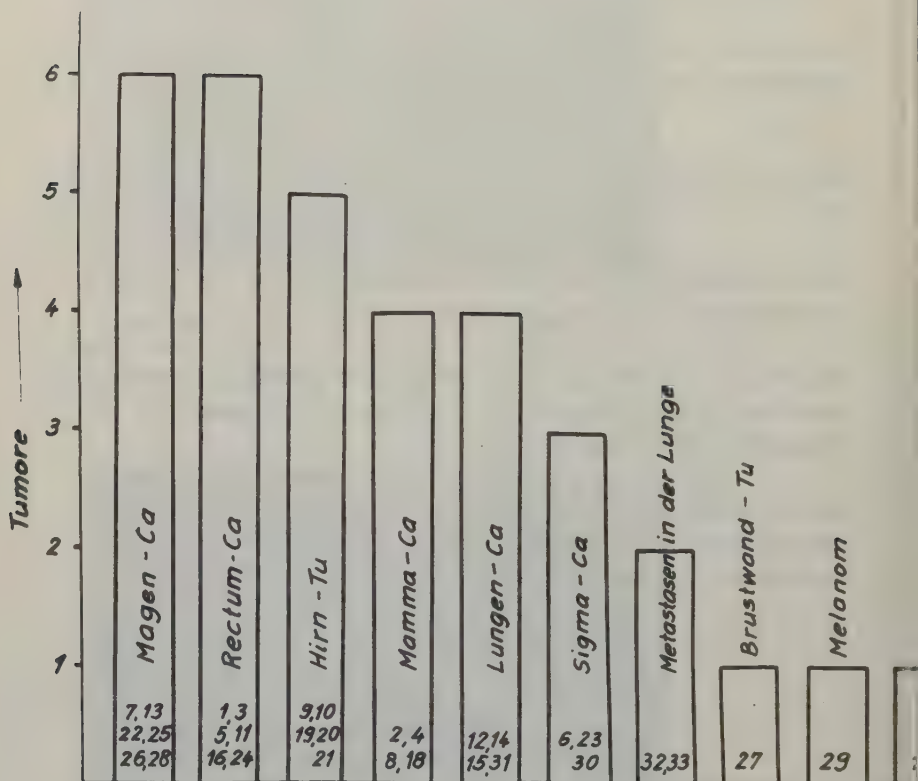
Durch Wasting Syndrom fielen die meisten Tiere aus, nämlich 607 Tiere = 51,2 % (58, 54, 55).

Von diesen 607 Tieren wurden 59 Tiere = 10 % auf zurückgebliebene Thymusreste untersucht; dabei wurde in keinem Fall ein Thymusrest gefunden.

Ebenso wurde bei keinem Tier der späteren Tumorreihe GW 176, das ist der Tumor, der bei dieser Versuchsreihe dauerhaft überpflanzt werden konnte, ein Restthymus gefunden.

B Überpflanzung

1. Tumormaterial



- Die Überpflanzten Tumore, nach anatomischer Herkunft und Häufigkeit der Überpflanzung geordnet. Arabische Ziffer = chronologische Reihenfolge der Überpflanzung. -

Insgesamt wurden 33 Tumore überpflanzt. Nach dem Ursprungsorgan, anatomische Einteilung, gliedern sich diese wie folgt auf:

Magen-Ca	6mal
Rectum-Ca	6mal
Hirn-Tu	5mal
Mamma-Ca	4mal
Lungen-Ca	4mal
Sigma-Ca	3mal
Metastasen in der Lunge	2mal
Brustwand-Tu	1mal
Melanom	1mal
Sternum-Tu	1mal

2. Histologie

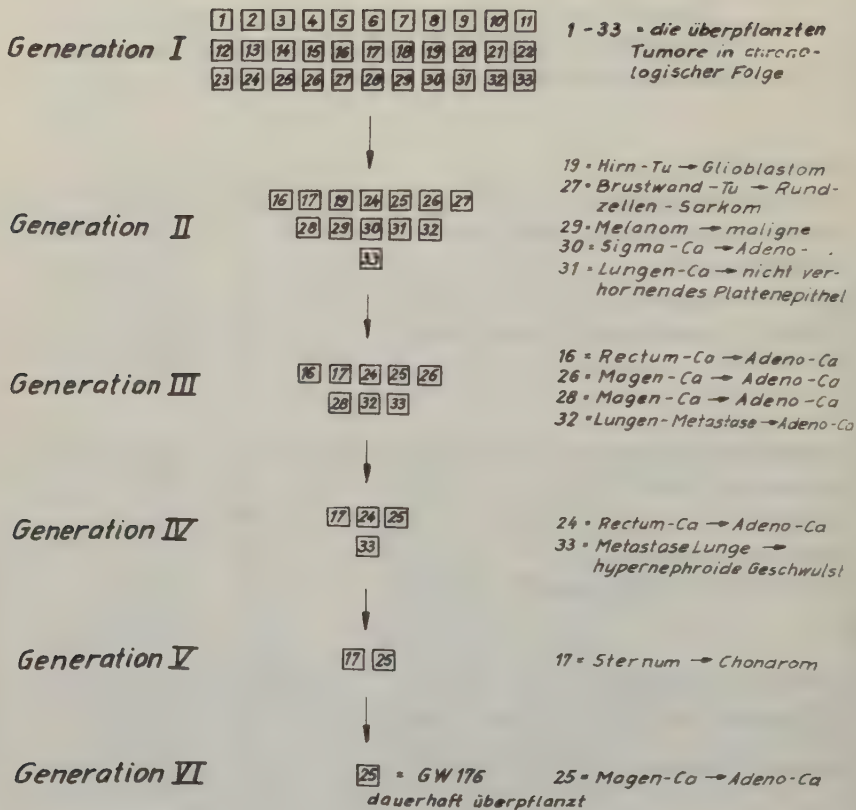
Sämtliche Tumore - Ausgangsmaterial - wurden histologisch untersucht. Dabei fand sich im Ausgangsmaterial immer Tumorgewebe. Die einzelnen Tumorgenerationen wurden lediglich in 2 Fällen histologisch untersucht. Auf die jeweilige histologische Untersuchung jeder einzelnen Tumorgeneration wurde deshalb verzichtet, da bei diesen Versuchen ausschließlich die Suche nach einem dauerhaft überpflanzbaren Tumor im Vordergrund stand und das Tumormaterial der einzelnen Generationen für eine getrennte histologische Untersuchung einfach zu wenig war. So war nicht von Interesse, ob bei einem Tumor, der z. B. bis in 3 Generationen überpflanzt werden konnte, in dieser dritten Generation noch Tumormaterial nachzuweisen war. Entscheidend war lediglich, ob ein Tumor überhaupt weiterüberpflanzt werden konnte und inwieviel Generationen. War eine Weiterüberpflanzung nicht mehr möglich, schied der Tumor aus der Versuchsreihe aus.

Auf Grund der histologischen Untersuchung im Pathologischen-Anatomischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg - Direktor Prof. E. Müller - gliedern sich die 33 Tumore, geordnet nach der Reihenfolge der Überpflanzung, wie folgt auf:

Lfd. Nr.	Tag der Op. u. Überpfl.	Name, Alter des Pat.	Art des Tumors anat.	histol.
1.	19. 8.1965	W.F. 64 J.	Rectum-Ca	Adeno-Ca
2.	24. 8.1965	T.S. 40 J.	Mamma-Ca	Milchgang-Ca
3.	2. 9.1965	S.A. 56 J.	Rectum-Ca	Adeno-Ca
4.	17. 9.1965	L.M. 48 J.	Mamma-Ca	Ca sol.simplex
5.	28.10.1965	H.S. 71 J.	Rectum-Ca	Adeno-Ca
6.	29.10.1965	R.A. 58 J.	Sigma-Ca	Adeno-Ca
7.	23. 3.1966	S.J. 61 J.	Fornix-Ca	Kleinzell.Retothelsarkom
8.	1. 4.1966	S.U.	Mamma-Ca	Ca sol.simplex
9.	1. 4.1966	W.F.	Hirn-Tu	Meningeom
10.	13. 4.1966	S.U.	Hirn-Tu	Meningeom
11.	15. 4.1966	W.U.	Rectum-Ca	Adeno-Ca
12.	19. 4.1966	M.H.	Lungen-Ca	Haferkorn-Typ
13.	2. 5.1966	H.U.	Magen-Ca	Gallert-Ca
14.	2. 5.1966	H.X.	Lungen-Ca	Haferkorn-Typ
15.	10. 5.1966	F.F.	Lungen-Ca	Haferkorn-Typ
16.	17. 5.1966	S.U.	Rectum-Ca	Adeno-Ca
17.	20. 5.1966	R.U.	Sternum	Chondrom
18.	23. 5.1966	H.U.	Mamma-Ca	Ca sol.simplex
19.	3. 8.1966	S.C.	Hirn-Tu	Glioblastom
20.	27.10.1966	W.U.	Hirn-Tu	Glioblastom
21.	31.10.1966	E.T.	Hirn-Tu	Glioblastom
22.	14.11.1966	K.N. 43 J.	Magen-Ca	Adeno-Ca
23.	21.11.1966	U.U.	Sigma-Ca	Adeno-Ca
24.	3. 2.1967	P.U.	Rectum-Ca	Adeno-Ca
25.	16. 2.1967	R.T.	Antrum-Ca	Adeno-Ca
26.	16. 2.1967	Z.A.	Metastase li. Lunge	hypernephroide Geschwulst
27.	1. 3.1967	D.H.	Antrum-Ca	Adeno-Ca (Ulcus)
28.	7. 3.1967	W.F.	Brustwand -Tu	Rundzellensarkom
29.	15. 3.1967	B.M.	Magen-Ca	Adeno-Ca
30.	6. 4.1967	U.X.	Melanom	maligne
31.	14. 4.1967	B.L.	Sigma-Ca	Adeno-Ca
32.	19. 4.1967	P.W. 55 J.	Lungen-Ca	nicht verhornendes Plattenepithel
33.	19. 5.1967	R.L. 65 J.	Lungen-Meta	Adeno-Ca

Dabei konnten folgende Tumore auf weitere Generationen
überpflanzt werden:

Hirn-Tu-Meningeom	bis zur II. Generation
Hirn-Tu-Glioblastom	" " " "
Brustwand-Tu-Rundzellensarkom	" " " "
Melanom-maligne	" " " "
Sigma-Ca-Adeno-Ca	" " " "
Lungen-Ca-nicht verhornendes Plattenepithel	" " " "
Magen-Ca-kleinzelliges Retothelsarkom	bis zur III. Generation
Rectum-Ca-Adeno-Ca	" " " "
Magen-Ca-Adeno-Ca	" " " "
Magen-Ca-Adeno-Ca	" " " "
Lungen-Metastase-Adeno-Ca	" " " "
Rectum-Ca-Adeno-Ca	bis zur IV. Generation
Metastase-Lunge-hypernephroide Geschwulst	" " " "
Sternum-Chondrom	" " " "
GW 176-Magen-Ca-Adeno-Ca	dauerhaft überpflanzt



- Tumore, die über mehrere Generationen überpflanzt werden konnten. -

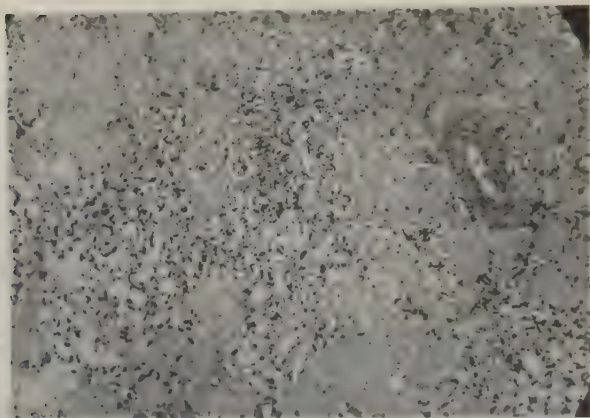
Es wurden bei 2 Tumoren

a) Nr. 7, kleinzelliges Retothel-Sarkom aus dem
Fornix-Bereich des Magens und

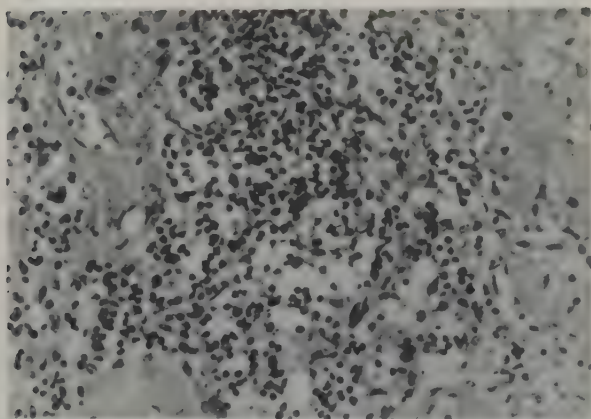
b) Nr. 9, Meningeom aus dem Gehirn

die einzelnen Generationen histologisch untersucht. Dabei
wurden in jeder Überpflanzungsstufe Tumorzellen gefunden.
Siehe folgende Bilder.

Aus dem Fornixbereich des Magens kleinzelliges
Retothelsarkom.

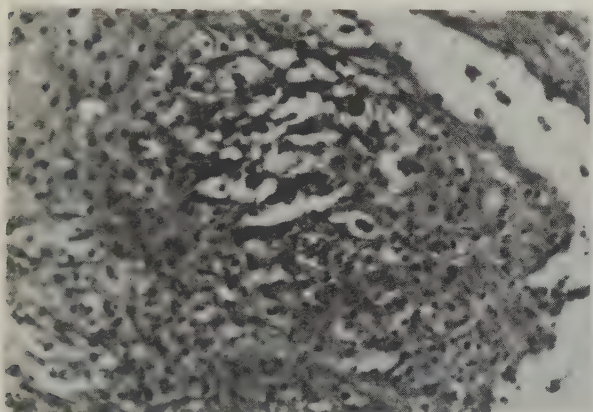


- Ausgangsmaterial, Vergr. 78 x -

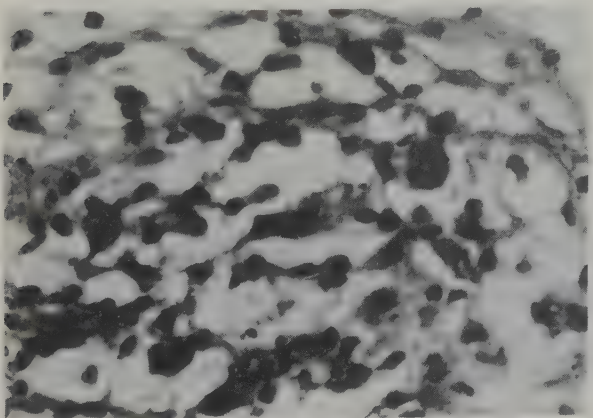


- Ausgangsmaterial, Vergr. 200 x -

Aus dem Fornixbereich des Magens kleinzelliges
Retothelsarkom. Generation I.

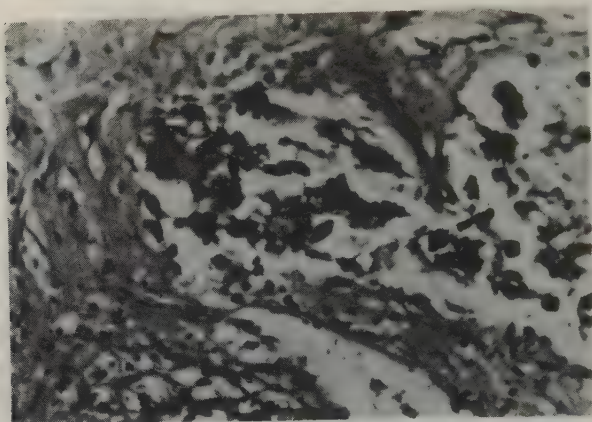


- In die Backentasche des Hamsters überpflanzt.
Nach 7 Tagen histologisch untersucht.



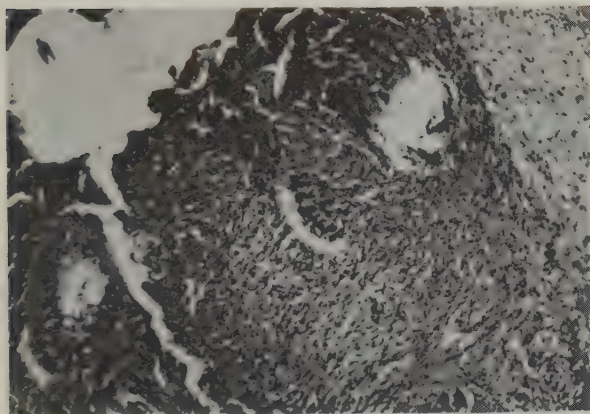
- Derselbe Tumor in 50ofacher Vergr. -

Aus dem Fornixbereich des Magens kleinzelliges
Retothelsarkom. Generation II.

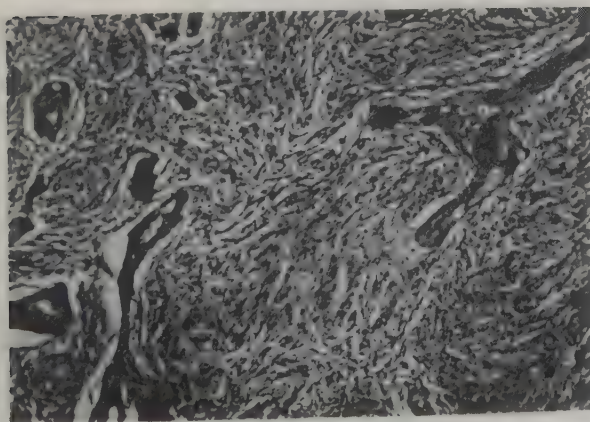


- Von Generation II nach Generation III in die
Backentasche des Goldhamsters überpflanzt. Nach
10 Tagen histologisch untersucht. Vergr. 200 x. -

Hirn-Tu-Meningeom. Ausgangsmaterial

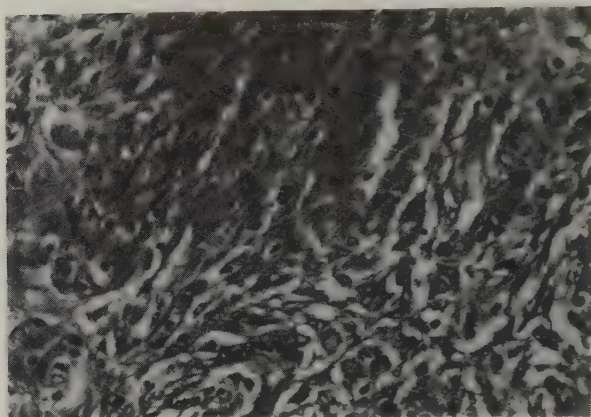


- Übersicht über Ausgangsmaterial. Vergr. 78 x -



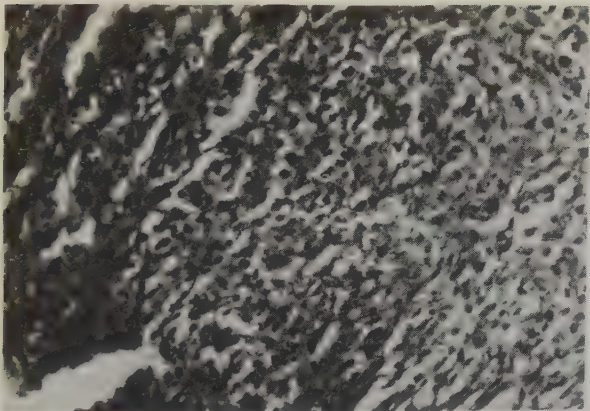
- Ausgangsmaterial Meningeom. Vergr. 78 x -

Hirn-Tu-Meningeom. Ausgangsmaterial

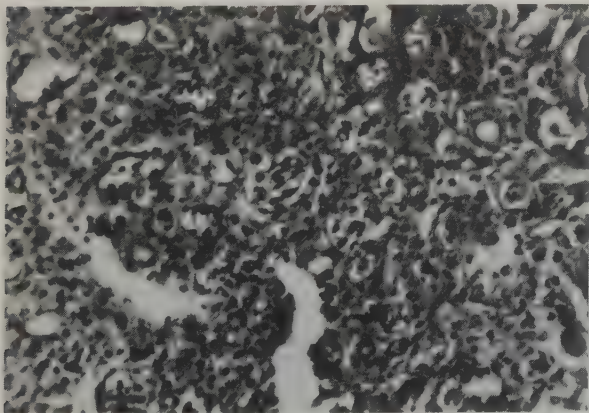


- Meningeom. Ausgang. Vergr. 200 x -

Hirn-Tu-Meningeom. Generation I.

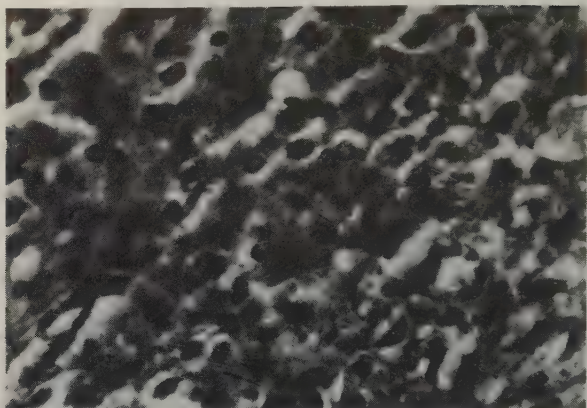


- Aus der Backentasche des Goldhamsters nach 5 Tagen histologisch untersucht. Vergr. 200 x -



- Wie oberes Bild. Vergr. 200 x -

Hirn-Tu-Meningeom. Generation I.



- Aus der Backentasche des Goldhamsters nach 5 Tagen histologisch untersucht. Vergr. 500 x -

3. GW 176

Am 16. 2. 1967 wurde als 25. Tumor der Versuchsreihe ein Magen-Ca (Antrum-Ca) eines 66jährigen Patienten, R.T., überpflanzt.

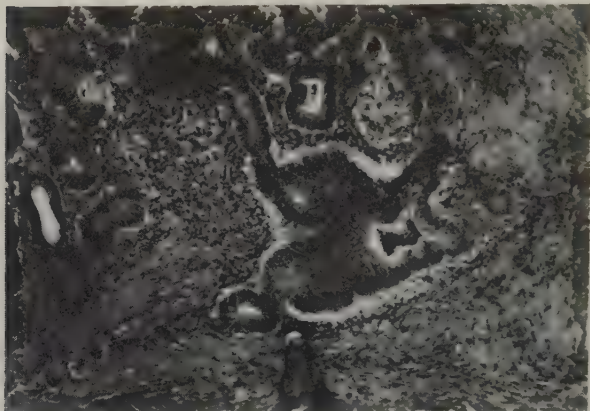
Das überpflanzte Material stammte aus einem Magenresektionspräparat mit einem Daumenballengroßen ulcerierten Tumor im Bereich des Antrum.

Histologisch fand man in Schnitten aus dem Tumorbereich angrenzend an eine Antrum Schleimhaut atypische Drüsenwucherungen. Diese durchsetzen die gesamte Magenwand. Zur Tiefe hin sind die Drüsen vielfach cystisch erweitert und mit Schleimmassen ausgefüllt. Mitunter zeigt sich ein sog. Drüsenaufbruch.

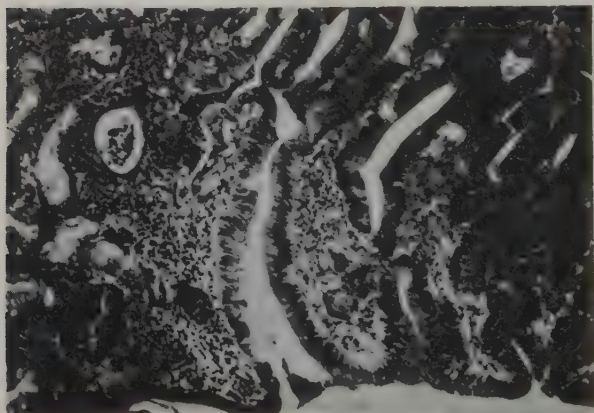
In Tumor-freien Abschnitten zeigt die Schleimhaut eine ausgedehnte intestinale Metaplasie.

Histologische Diagnose: Adeno-Ca des Magens mit Verschleimungstendenz.

GW 176. Adeno-Ca des Magens mit Verschleimungstendenz.

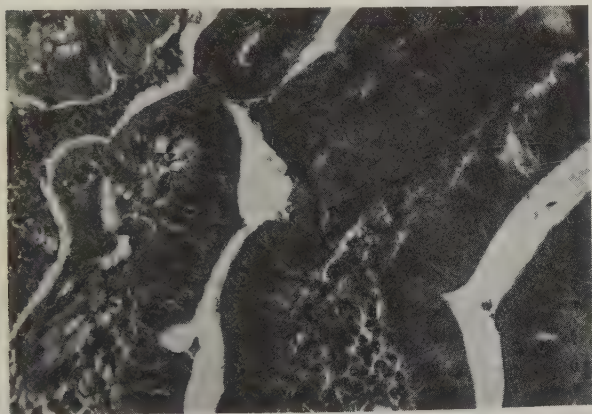


- Ausgangsmaterial GW 176, Tumorbezirk. Vergr. 78 x -



- Ausgangsmaterial GW 176. Übergangszone der physiologischen Schleimhaut zum Tumor. Vergr. 78 x -

GW 176. Adeno-Ca des Magens mit Verschleimungstendenz.



- Ausgangsmaterial GW 176. Übergangszone der physiologischen Schleimhaut zum Tumor. Vergr. 200 x -

Am Beispiel dieses Tumors, der dauerhaft in die Backentasche des Hamsters überpflanzt werden konnte, soll der Weg der Überpflanzung dargestellt werden.

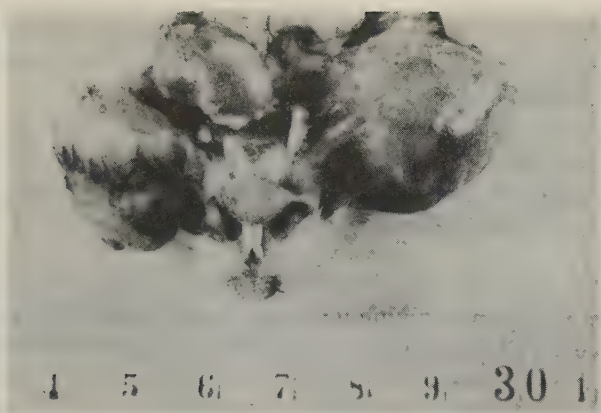
Es wurde - Kontrolltiere nicht gezählt - am 16.2.1967 auf insgesamt 15 thymektomierte Hamster der Tumor überpflanzt.

Von dieser Gruppe wurden am 22.2.1967, also bereits nach 6 Tagen, von 7 Tieren die angewachsenen Tumore aus der Backentasche entfernt und auf 10 andere thymektomierte Hamster als Generation II a) weiterüberpflanzt.

Von den restlichen Tieren der Generation I, also der "Ausgangsgeneration", wurden am 27.2.1967 - nach 11 Tagen - als Generation II b) auf weitere 8 thymektomierte Hamster überpflanzt. Dabei stellte sich jedoch nach der Überpflanzung heraus, daß das übertragene Tumormaterial infiziert war. Die Tiere wurden getötet, es fiel somit diese Generation II b) aus.

Die beiden restlichen Tiere der Generation I wurden - wie bei jeder Überpflanzung, - nicht übertragen, sondern so lange weiterbeobachtet, bis ein eventuelles Tumorstadium mit Sicherheit ausgeschlossen werden konnte, also etwa 8 Wochen.

In diesem Fall jedoch konnte das Tumorstadium schon nach einer Woche deutlich beobachtet werden; das Tier - s. Bild - wurde deshalb am 7.3.1967 - nach 19 Tagen - fotografiert und sezziert.



- Tumor GW 176, 19 Tage nach Erstüberpflanzung
fotografiert. -

Dabei fanden sich auch lymphogene Metastasen. In keinem Fall konnte bei einem Tier dieser Tumorreihe bei der späteren Sektion ein Restthymus gefunden werden.

Am 13.3.1967 - nach 25 Tagen - wurden als Generation IV 8 weitere thymektomierte Tiere überpflanzt und dann aus der eigenen Versuchsreihe in das Hauptlabor übergeben.

Als Generation V und alle folgenden wurden dann nur noch unbehandelte Tiere verwendet.

Nach jeder Überpflanzung, ob Erstüberpflanzung oder Tumorgenerationen, wurden alle Tiere 8 Wochen weiter beobachtet. Wurden aus den Backentaschen die Tumore herausgeschnitten, heilte die Wunde innerhalb weniger Tage ab, so daß das Tier dadurch nicht behindert war.

Grundsätzlich wurde auf jedes Tier nur einmal ein Tumor überpflanzt, auch wenn dann keinerlei Tumorwachstum festgestellt werden konnte.

Der neue dauerhaft überpflanzte Tumor, der sich inzwischen schon in weit über der 100. Generation befindet, bekam die Laborbezeichnung GW 176.

Nachdem der Tumor aus dieser Versuchsreihe herausgenommen und vom Hauptlabor übernommen wurde, konnte er von mir nicht mehr weiter verfolgt werden.



- Narkotisierter Goldhamster, dessen Backentasche herausgestülpt und der angewachsene Tumor gemessen wird. -

4. Teil

D i s k u s s i o n

Bei den Versuchen der Überpflanzung menschlicher Tumore auf neonatal thymektomierte Hamster hat sich - was die beschriebene Versuchsanordnung betrifft - die Hoffnung nicht erfüllt, eine signifikant höhere Tumorangehrate zu erzielen, als bei nicht vorbehandelten oder auf andere Weise immun-suppressiv vorbehandelten Hamstern erzielt wird. Die neonatale Thymektomie hat somit keinen Effekt beim Anwachsen eines "frischen" menschlichen Tumors in der Backentasche des Goldhamsters.

Die Frage, inwieweit primär überhaupt Tumorzellen überpflanzt wurden, kann dahingehend beantwortet werden, daß immer das jeweilige Ausgangsmaterial von uns selbst histologisch untersucht und in jedem Fall Tumorzellen nachgewiesen wurden. Diese Möglichkeit scheidet also grundsätzlich aus.

Die Frage, wie in anderen Labors bei derselben Versuchsanordnung die Ergebnisse aussehen, kann nicht beantwortet werden, da in der Literatur bis jetzt keine vergleichbare Arbeit bekannt ist.

Daß die neonatale Thymektomie überhaupt einen Effekt auf die immunologische Reaktion hat, ist sicher. Dieser Effekt kommt jedoch in Bezug auf die Hamsterbackentasche nicht zum Tragen. Somit können aus dieser Sicht die Ergebnisse von BILLINGHAM und SILVERS und WITTE und Mitarb. unterstützt werden, daß die Hamsterbackentasche "immunologisch privilegiert", damit also von der sonstigen immunologischen Reaktion ausgeschlossen ist.

Man müßte somit annehmen, daß Tumortransplantate in die Hamsterbackentasche - gleichgültig ob immunsuppressiv vorbehandelte oder nicht vorbehandelte Tiere verwendet werden - eine höhere Angehrate haben als Überpflanzungen in einem anderen Bereich. Dies ist jedoch ebenfalls nicht der Fall. Geht man davon aus, daß der Thymus primär das entscheidende Organ zur Ausbildung der immunologischen Reaktion ist, geht man weiter davon aus, daß durch die neonatale Thyrektion das Zusammenspiel eines "immunologischen Reflexes" verhindert wird, müßte dem Anwachsen eines Tumors ein anderer Mechanismus entgegenstehen.

So kann man diskutieren, daß die Tumorzellen durch die Excision während der Operation sowie durch den Zeitraum zwischen Excision und Überpflanzen auf das Tier so geschädigt sind, daß sie nicht mehr lebensfähig sind. In diesem Zusammenhang wäre auch zu beachten, wie schnell die Überpflanzten Zellen in der Backentasche des Hamsters an den Wirtsstoffwechsel, d. h. an die Blutversorgung angeschlossen werden. Die Frage, ob diese Zeitspanne zum Überleben der Zellen einfach nicht ausreicht, muß offen bleiben.

Möglicherweise jedoch erscheint das Zusammenspiel aller dieser Faktoren entscheidend zu sein, nämlich in der Weise, daß zwar die immunologische Privilegierung der Hamsterbackentasche besteht, daß aber nicht eine vollständige Abwehrmauer zwischen Backentasche und dem immunologischen System besteht. Trifft dann eine wenn auch schwach ausgeprägte immunologische Abwehr auf die durch die Überpflanzung in ihrer Lebensfähigkeit ebenfalls vorgeschädigten Zellen, so reicht dies aus, das Anwachsen der Tumorzellen zu verhindern.

Weiterhin stellt sich das Problem der Natur des Wasting Syndroms. In der Pathogenese der symptomatologisch gleichen Runtkrankheit der neugeborenen Mäuse und der Sekundärkrankheit nach Bestrahlung erwachsener Tiere besteht wohl kein Unterschied. Immer ist das immunologische System und damit die Abwehr gegen irgendwelche Erreger von außen gestört. In diesen Fällen ist der Thymus und das priphere lymphatische Gewebe von Lymphozyten entleert. Das Versagen des lymphatischen Apparates ist damit für die klinischen Erscheinungen verantwortlich.

Ein weiteres Problem ist die Ursache der lymphatischen Atrophie beim neonatal thymektomierten Tier. Offenbar ist die Anwesenheit des Thymus zum Aufbau des lymphatischen Systems in einem bestimmten Zeitpunkt der Ontogenese und im späteren Leben für dessen Aufrechterhaltung auf einem ausreichenden Niveau vonnöten. Der genaue Mechanismus ist allerdings nicht bekannt.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Es wurde untersucht, ob vermehrt menschliches Krebsmaterial dauerhaft in die Backentasche des Goldhamsters überpflanzt werden kann, wenn das Tier neonatal thymektomiert war.
2. Dabei wurde
 - a) die Züchtung und Haltung der Versuchstiere studiert sowie
 - b) die Auswirkungen der neonatalen Thymektomie auf das verwendete Versuchstier untersucht.
3. Es wurden
 - a) die Methodik der neonatalen Thymektomie ausgearbeitet und
 - b) der Weg eines überpflanzten menschlichen Tumors, an Hand von GW 176, dargestellt.
4. Insgesamt wurden 1186 Goldhamster neonatal, innerhalb 24h nach Geburt, thymektomiert. Davon kamen 453 Tiere in den Versuch, 733 Tiere fielen aus durch Wasting Syndrom (607 Tiere), Mortalität (60 Tiere) und Kannibalismus (66 Tiere). Sowohl die im Versuch verwendeten, als auch die ausgefallenen Tiere wurden in unregelmäßigen Abständen seziiert und auf Thymusreste untersucht.
5. Es konnten
 - 6 Tumore bis zur II. Generation,
 - 5 Tumore bis zur III. Generation,
 - 2 Tumore bis zur IV. Generation,
 - 1 Tumor bis zur V. Generation und
 - 1 Tumor - GW 176 - dauerhaftin die Backentasche des Goldhamsters überpflanzt werden.
6. Bei der angegebenen Versuchsanordnung war ein vermehrtes Angehen des Tumormaterials nach neonataler Thymektomie nicht festzustellen.

Literatur

1. AHLSTRÖM, C.G.: Heterologous transplantation of cancer. Zschr. Krebsforschung 61 (1957) 589.
2. ABERG, E.J., R.D. SPRAGUE, C.AUSTIN und K.M. GRIFFITH: Evaluation of new chemotherapeutic agents in the treatment of multiple myeloma. IV. L-phenylalanine mustard (MSC 8806). Cancer Chemother. Rep. 21 (1962) 87.
3. ARMASON D.G., JANCOWIC E.D. und WAKDSMAN E.H.: Blood 20, 617 (1962).
4. Dieselben: Nature (Lond) 194, 99 (1962).
5. AZAR, E.A., WILLIAMS, J., TANATSUKI, K.: The Thymus, Wistar Inst. Symposium Nr. 2, 1964 (V. DEFENDI und D. METCALF, Ed.), Wistar Inst. Press, Philadelphia, p. 75.
6. AZAR, E.A. SNYDER R.W. und WILLIAMS J.: Fed. Proc. 23,600 (1963).
7. BICKIS, I.J., I.W.D. HENDERSON und J.E. QUASTAL: Biochemical studies of human tumors II. In vitro estimation of individual tumor sensitivity to anticancer agents. Cancer 19 (1966), 103.
8. BILLINGHAM, R.E. und W.K. SILVERS: Studies on cheek pouch skin homografts in Syrian hamster. In: Ciba Foundation Symposium on Transplantation, hrsg. von G.E.W. WOLSTENFOLIE und H.P. CAMERON. Boston: Little, Brown u. Co 1962 (S. 90).
9. Dieselben: Skin transplantation and the hamster. Sci. Amer. 208 (1963), 110.
10. BILLINGHAM, R.E., L.W. FERRIGAN und W.K. SILVERS: Cheek pouch of the Syrian hamster and tissue transplantation immunity. Science 132 (1960), 1488.
11. BJÖRRESEN, H., GORMSEN, E. und LUNDQUIST F.: J. Immunol. 55, 121 (1947).
12. BRUCE und HINDLE, 1934, zit. in 28.
13. CHUTE, R.H., S.C. SOMERS und S. WARREN: Heterotransplantation of human cancer, II. Hamster cheek pouch. Cancer Res. 12 (1952) 912.

14. COBB, J.P., D.G. WALKER und J.C. WRIGHT: Comparative chemotherapie studies on primary short term cultures of human normal, benign, and malignant tumor tissues a five year study. *Cancer Res.* 21 (1961) 583.
15. COONS, A.H., LUDUC E.H. und KAPLAN H.E.: *J. exp. Med.* 93, 173 (1951).
16. COTTLEW, H.: Zur Histopathologie des Antikörpermangelsyndroms. *Schweiz. med. Wschr.* 88:82-86 (1958).
17. DEFENDI, V., ROOSA, R.A. und KOPROWSKI, H.: *Thymus in Immunobiology*, R.A. GOOD, A.E. GABRIELSEN, Ed., HOEBER_Haper, New York, 1964, p 504.
18. DE SOMMER, P., DENYS, P. und LEYTEN, R.: *Life Sci.* 11,810 (1963).
19. *Dtsch. Ärzteblatt* 6.5.1967
20. EAST, JUNE und PARROT D.M.V.: The Role of the Thymus in Autoimmune Disease. *Acta allergologica* (Kopenhagen) 20,4 (1965).
21. EAST, JUNE, PARROT, D. M. V., CHESTERMAN, F.C. und POLERANCE, A.: *J. exp. Med.* 113, 1069 (1963).
22. *Frankfurter Allgemeine* 30.3.1967, Beitrag Natur und Wissenschaft, R. FLÜHL.
23. FULTON, G.P., R.G. JACKSON und B.R. LUTE: Cinephotomicroscopy of normal blood circulation in the cheek pouch of the hamster. *Science* 105 (1947) 361.
24. GALEN(US), CLAUDIUS, 129 bis 201 n.Chr. *Arzt der römischen Kaiserzeit*, zit. in 36.
25. GOLDENBERG, D.M.: Die Verwendung einiger neuer Human-Tumorstämmen in der experimentellen Krebsforschung. *Archiv für Geschwulstforschung* 1967, Band 29, Heft 1.
26. GOLDENBERG, D. M., S. WITTE und K. ELSTER: Ein neuer heterolog-transplantierbarer Humantumor, GW 39, als Testsystem für chemotherapeutische Versuche. Vortrag Deutscher Krebskongreß 1966.
27. GOLDENBERG, D. M.: Die Verwendung einiger neuer Human-Tumorstämmen in der experimentellen Krebsforschung. *Archiv für Geschwulstforschung* 1967, Band 29, Heft 2.
28. GRANADOS, HUMBERTO: Nutritional Studies on Growth and Reproduction of the Golden Hamster. *Acta Physiologica Scandinavica*. Vol. 24. Supplementum 87. Copenhagen 1951.
29. GREENE, H.S.N.: Heterologous transplantation of human and other mammalian tumors. *Science* 88 (1938) 357.

30. HAMMAR, J. A.: Experimentelle Untersuchung über die Rolle des Thymus bei der Immunisierung. Z.mikr. anat. Forsch. 44:425-450 (1938).
31. HARRIS, S. und HARRIS, T.N.: J. exp. Med. 100, 269 (1954).
32. HARRIS, T.N., RHOADS, J. und STOKES, J.A.: A study of the role of the thymus and spleen in the formation of antibodies in the rabbits. Transplant. Bull. 4:21-22 (1957).
33. HERBUT, P.A. und W.E. KRAEMER: Heterologous transplantation of human tumors. Cancer Res. 16 (1956) 400.
34. FITZIG, W.H. und WILLI, H.: Hereditäre lymphoplasmocytäre Dysgenese ("Alymphocytose mit Agammaglobulinämie"). Schweiz. med. Wschr. 52:1625-1633 (1961).
35. HUMPHREY, J.H. PARROT, D.M. und EAST, J.: J. Immunology 7, 419 (1964).
36. IMAGE, ROCHE, 2, 1967.
37. JANCOVIC, B.D., WAKSMAN, B.H. und ARNASON, B.G.: J. exp. Med. 116 (1962) 159.
38. LAW, L.D., DUNN, T.B., TRAININ, N. und LEVEY, R.H.: The Thymus, Wistar Inst., Symposium Nr. 2, 1964 (V. DEFENDI; D. METCALF, Ed.), Wistar Inst. Press, Philadelphia, 105.
39. MAC LEAN, L.D., ZAL, S.J., VARCO, R.L. und GOOD, R.A.: The role of the thymus in antibody production: An experimental study of the immune response in thymectomized rabbits. Transplant. Bull. 4:21-22 (1957).
40. LEMON, H.M., B.R. LUTZ, R. POPE, L. PARSONS, A.H. HANDLER und D. J. FATT: Survival and growth of human tissues transplanted to hamster cheek pouch. Science 115 (1952) 461.
41. LÖFFLER, HANS: Thymus und Immunität. Schweiz. med. Wschr. 95, Nr. 43, 1415 - 1419 (1965).
42. LUTZ, B.R., G.P. FULTON, D. J. FATT, A.H. HANDLER und D.F. STEVENS: Serial sarcoma transplantation in the hamster cheek pouch, and the effect of advanced neoplasia on the small blood vessels. Anat. Rec. 103 (1950) 545.
43. MILLER, J.F., A.P.: Immunological function of the thymus. Lancet i. i.: 748-749 (1961).
44. Derselbe: Role of the thymus in transplantation tolerance and immunity in transplantation. Ciba Found. Symp. G.E. HOLSTEN_ HOLME und M.P. CAMERON, eds., p.p. 384-403 (Churchill, Lond. 1962).

45. Derselbe: Effect of neonatal thymectomy on the immunological responsiveness of the mouse. *Proc. roy. Soc. B* 156:415-423 (1962).
46. Derselbe: *Lancet*, i.i. 743 (1961).
47. Derselbe: *Lancet*, i.i. 1963, v1, 44.
48. MILLER, J.F.A.P. und DUKOR, P.: Die Biologie des Thymus nach dem heutigen Stand der Forschung. Akademische Verlagsges. Frankfurt (Main), 1964.
49. MILLER, J.F.A.P., GRANT, G.A. und ROE, H.J.C.: *Nature* (Lond.) 199, (1964) 920.
50. MUELLER, A.P., WOLFE, H.R. und MEYER, R.R.J.: *Transplantat. Bull.* 4,21 (1957).
51. MURPHY, J.B.: Heteroplastic tissue grafting effected through roentgen-ray lymphoid destruction. *J. Americ. Med.Ass.* 62 (1914) 1459.
52. MURPHY, J.B. und E. STURM: Conditions determining the transplantability of tissues to the brain. *J. exp. Med.* 38 (1923) 183.
53. PARROT, D.M.V.: *Transplant. Bull.*, 1962, v29, 102.
54. PERRI, G.C., M. FAULK, E. SHAPIRO, J. MELLORS und W.L. MOELY: Function of the thymus and Growth of tumour homograft. *Nature* 20, 1963, 1294.
55. ROOSA, R.A., WILSON, D.A. und DEFENDI, V.: Effect of Thymectomy on Hamsters. *Proceedings on the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1965, v118, 584-590.
56. Dieselben: *Fed. Proc.*, 1963, v22, 599.
57. SELLE, 1945, zit. in 28.
58. SHERMAN, J.D. und DAMASHEK, W.: "Wasting Disease " following thymectomy in the hamster. *Nature* February 2, 1963, p 469.
59. SJODIN, K., DALMASSO, A. P., SMITH, J. und MARTINEZ, C.: Thymectomy in newborn and adult mice. *Transplantation* Vol. 1, Nr. 4, Okt. 1963.
60. THORBECKE, G.J. und KEUNING, F.J.: *J. Immunol.* 70, 129 (1953).
61. TOOLAN, E.H.: Growth of human tumors in cortisone-treated laboratory animals: Possibility of obtaining permanently transplantable human tumors. *Cancer Res.* 13 (1953) 389.

62. Dieselbe: Permanently transplantable human tumors maintained in conditioned heterologous hosts: H. Chon. Nr. 1, E.Ep. Nr. 4, and H.Ad.Nr. 1, Cancer Res. 17 (1957) 418.
63. Dieselbe: Heterologous growth of human tumors and normal tissue in subcutaneous sites! Med. Clin.N. Amer. 40 (1956) 951.
64. WILSON, R., SJODIN, K. und BEALMAR, M.: The Wistar Inst. Symp. Monogr. (Philadelphia) 2,89 (1964).
65. WITTE, S., D.M. GOLDBERG und K.H. SCHRICKE: Mangel an Lymphgefäßen als Ursache der immunologischen Privilegierung der Hamsterbackentasche. Klin.Wschr. 43 (1965) 1182.
66. WITTE, S., D.M. GOLDBERG und E. BREINING: Beobachtungen über das heterologe Wachstum eines neuen menschlichen Ovarialkarzinoms im Goldhamster. Med. Welt 17 (1966) 1453.

Die Skizzen und grafischen Darstellungen wurden
gezeichnet von Frau Konhäuser, Bad-Nauheim-Nieder-
lörlan, Hauptstraße 50 B.

Herrn Professor Witte danke ich für seine Aufgeschlossenheit, Geduld und seine Ermunterung, wodurch die Ausführung dieser Arbeit erst ermöglicht wurde.

Herrn Professor Dr. E. Müller, Direktor des Pathologischen Instituts der Universität Erlangen-Nürnberg, danke ich für seine Erlaubnis, die Unterlagen der histologischen Präparate aller von mir verwendeten Tumore einzusehen, sowie für das Überlassen des histologischen Präparates - Ausgangsmaterial - von GW 176.

Herrn Res. Assoc. Professor Dr. rer. nat.
Dr. med. D. M. Goldenberg, jetzt University of Pittsburgh, USA, unter dessen Aufsicht diese Arbeit entstand, danke ich für seine Ratschläge während der Versuche.

Lebenslauf

Am 23. Dezember 1938 wurde ich als Sohn des jetzigen Oberregierungsdirektors Dr. jur. Konrad Dehlinger und seiner Ehefrau Hilde, geb. Hauber in Stuttgart geboren.

Durch die Zerstörung unserer Wohnung während des Krieges wurden wir nach Schwäbisch Hall evakuiert. Hier besuchte ich ab 1945 die Volksschule und ab 1949 das Gymnasium bei St. Michael, wo ich auch das Abitur ablegte.

Nach Studienjahren in Tübingen, Würzburg und Erlangen bestand ich hier am 30. 7. 1968 das medizinische Staatsexamen.

Am 31. 5. 1970 habe ich meine Medizinalassistentenzeit an Kliniken in Stuttgart, Böblingen und Bad Nauheim beendet.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
